

PROCEDEU PENTRU OMOGENIZAREA SPUTEI ŞI A SECREŢIEI BRONŞICE ÎN VEDEREA EXAMENULUI CITOLOGIC

L. Vincze, K. Kádár

Examenul citologic al sputei şi al secreţiei bronşice ocupă un loc important în diagnosticul tumorilor bronhopulmonare (1, 2, 3, 6, 7, 11, 12, 13, 16, 17). Aplicarea cât mai largă a acestei metode poate contribui la depistarea precoce, în stadiul operabil, a bolii. Scopul cercetărilor în acest domeniu este elaborarea unor metode simple, rapide şi eficiente.

Prelucrarea sputei şi a secreţiei bronşice este dificilă din cauza conţinutului de mucus vâcos. În practica curentă, materialul se examinează macroscopic, se recoltează micile fragmente solide, cenuşii, care conţin striuri sanguine, etalându-le pe lame (5). Această metodă directă nu asigură însă examinarea tuturor celulelor, fiind şi mai puţin precisă în cazurile când sputa nu conţine fragmente macroscopic suspecte. Inconvenientul nu este înlăturat nici prin includerea în parafină, o parte însemnată a celulelor lipsind din secţiuni.

S-au elaborat numeroase metode pentru lichefierea mucusului şi a fibrinei. Se aplică diferite soluţii omogenizante (8), ureea, bicarbonatul de sodiu (10), enzime proteo- şi mucolitice, ca tripsina (10), chimiotripsina (15), hialuronidaza (4).

EUGENIA GOINA, M. KERECES: DETERMINAREA ACTIVITĂȚII
 PROTEOLITICE...

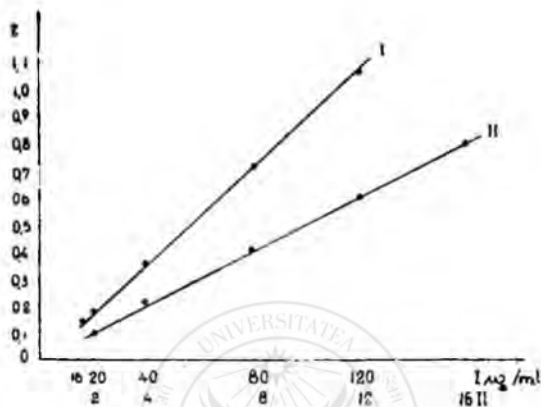


Fig. nr. 1.

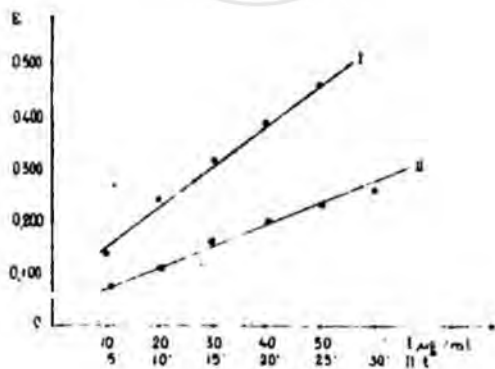


Fig. nr. 2.

Părerile referitoare la procedeul de omogenizare nu sînt unitare. Rezultatele nu sînt constante și concludente (8), enzimele proteolitice putînd digera și celule tumorale (15). Au apărut însă numeroase lucrări în care se prezintă metode de lichefiere a sputei, fără o acțiune noivă asupra elementelor celulare (10, 14). În urma omogenizării, materialul devine centrifugabil, prepararea frotiurilor este mai ușoară. Tot atunci sedimentul bine format se include — fără pierdere — în parafină, iar în secțiuni celulele sînt concentrate pe un teritoriu restrîns.

În laboratorul de citologie al disciplinei de anatomie patologică am elaborat un procedeu de lichefiere a sputei, în care digestia cu tripsină este asociată cu o amestecare mecanică continuă. Metoda generală de lucru este următoarea:

— materialul se trimite nefixat la laborator, cel mult la 2 ore după recoltare (dacă expedierea necesită un timp mai lung, se fixează cu o soluție descrisă mai jos);

— materialul primit pentru examinare se toarnă într-o cutie Petri. Fragmentele mici, suspecte, se întind pe lame care se fixează și se colorează după metoda lui Papanicolau (9);

— restul sputei sau secreției se omogenizează, iar din sediment se prepară 2—3 frotiuri;

— rezidul din sediment se include în plasmă oxalată recalefiată și în parafină (18), făcîndu-se secțiuni seriate.

Metoda de lucru folosită de noi, asigură examinarea fragmentelor inițial suspecte. Omogenizarea face posibilă examinarea tuturor celulelor.

Lichefierea mucusului și a fibrinei se realizează prin următoarea metodă:

materialului de examinat i se adaugă o soluție de tripsină în compoziția propusă de *Takahashi* (14), în cantitate de 25 ml (compoziția soluției: 980 ml apă distilată; 8,5 g NaCl; 0,2 g KCl; 0,2 g CaCl₂; 2 g bicarbonat de sodiu; 20 ml formol). Soluția se păstrează timp îndelungat. Tripsina se adaugă înainte de folosire, 0,2 g la 100 ml soluție de bază. Soluția definitivă se filtrează *Pharr* (10) ajutînd digestia mucusului prin agitare. Acest efect mecanic l-am asigurat prin amestecare mecanică, folosind agitatorul magnetic J.O.R. A.G.-1. Bețișoarele mici, furnizate cu acest aparat, nu corespund întru totul scopului prevăzut de noi. Ele se rotesc numai în vase cu fund complet plat. Mucusul se învîrtește în centrul vasului, soluția nu se amestecă bine cu mucusul. Pentru a înlătura aceste inconveniente, am confecționat un rotor din fier. Rotorul are patru bețișoare indoite, brațul orizontal avînd margini ascuțite; este nichelat, pentru a preveni ruginirea, și se așează pe un suport de aramă, format dintr-un stîlp mic și o placă de formă rotundă. Capătul superior al tijei are o concavitate pentru susținerea rotorului, al cărui porțiune centrală se angrenează în această concavitate (vezi fig. nr. 1, 2).

Aplicarea piesei: rotorul așezat pe suportul de arama se introduce într-un vas cu fundul plat (pahar cilindric). Se toarnă sputa sau secreția bronșică amestecată cu soluția de tripsină. Vasul se așează pe agitatorul magnetic. După pornirea motorului, rotorul, acționat de agitator, amestecă sputa cu soluția proteo-mucolică. După o omogenizare de 20—30 minute, omogenizatul se centrifughează, sedimentul fiind prelucrat după metoda descrisă anterior.

Soluția de bază a lui *Takahashi* se poate folosi și ca „fixator“. Formolul împiedică autoliza, concentrația lui fiind insuficientă pentru solidificarea mucusului și a fibrinei, fapt care ar împiedica digestia ulterioară. Deci, dacă materialul recoltat nu poate fi trimis imediat la laborator, se amestecă cu 15 ml de soluție de bază (nu conține tripsină), după care se poate păstra timp de 24 ore. În laboratorul de citologie, la materialul astfel „fixat“, se adaugă 10 ml soluție de tripsină 0,5%, asigurînd astfel concentrația finală de 0,2%.

Avantajele metodei prezentate:

— este o metodă simplă, rapidă, realizabilă în orice laborator;

— sputa sau secreția se poate centrifuga, sedimentul putînd fi prelucrat

în întregime. În frotiuri și secțiuni se poate examina marea majoritate a celulelor exfoliate și eliminate;

— piesa (rotorul), confecționată de noi, se poate folosi și în vase simple de laborator. Marginile ascuțite ale paletelor secționează filamentele de mucus și de fibrină. Faptul că porțiunea centrală a rotorului nu se scufundă în soluție, împiedică aglomerarea mucusului în centrul vasului, asigurând o amestecare completă și continuă.

Rezultatele obținute cu metoda prezentată corespund celor publicate în literatura de specialitate. Frotiurile preparate după omogenizare conțin celulele concentrate pe un teritoriu restrâns, putând găsi mai ușor celulele tumorale (fig. nr. 3). Datele prelucrării statistice dorim să le prezentăm într-o altă lucrare.

Sosit la redacție: 21 septembrie 1966.

Bibliografie

1. CARELLI E., CARBAGNI E., FAZIO M.: Panminerva Med. (1962), 4, 10, 450;
2. CECILIA CRISTEA: Oncol. și Radiol. (1962), 3, 265;
3. FARBER S. M., PHARR S. L., IKUMA NAGASAWA: Cancer cytology in bronchoscopic aspirations and sputum. VII. International Congress of bronchosopology, Kyoto, Japan, 1958;
4. FARBER S. M. și colab.: Cytologic diagnosis of lung cancer. Springfield, 1950, 111, 14;
5. McDONALD J. R., WOOLNER L. B.: Pulmonary cancers and their cells; study of sputum. First International Cancer Cytology Congress Chicago, 1956, 111, 125;
6. MEYER J. A., UMIKER W. O.: The Surg. Clin. of North. Amer. (1961), 41, 5, 1233;
7. MORSE H. R.: Exfoliative cytology of respiratory tract. The laryngoscope (1962), LXXII, 10, 1255;
8. NICOLESCU P.: Diagnosticul citologic al tumorilor bronho-pulmonare și pleurale. Ed. Medicală, București, 1960, 24;
9. PAPANICOLAU G. N.: Atlas of exfoliative cytology. Ed. Cambridge Mass. 1954;
10. PHARR S. L., FARBER S. M.: Acta Cytologica (1962), 6, 5, 447;
11. ROZEN P.: Oncologia și radiologia (1964), 3, 217;
12. RUSSEL W. O. și colab.: Acta Cytologica (1963), 7, 1, 1;
13. SUGĂR J.: Magyar Onkológia (1960), 4, 4;
14. TAKAHASHI M., URABE M.: Cancer (1963), 16, 2, 199;
15. UMIKER W., YOUNG L., WAITE B.: The use of chymotrypsin for the concentration of sputum in the cytologic diagnosis of lung cancer. University of Michigan Medical Bulletin (1958), XXIV, 265;
16. UMIKER W.: Diseases of the Chest. (1961), 40, 2, 154;
17. ZIMMER S.: Das Ärztliche Laboratorium (1962), 8, 2, 52;
18. VINCZE L.: Revista Medicală (1964), 10, 1, 103.